(Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Basel. [Vorsteher: Prof. Dr. Alfred Gigon].)

Die Extraktion des Bilirubins aus Blutserum und ihre klinische Verwendung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

Vorgelegt von

Oswald Wiss

von Wangen (Solothurn)

BASEL 1942

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Professor Alfred Gigon am 12. Juni 1942.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Buchdruckerei Friedrich Reinhardt AG., Basel

Die quantitative, kolorimetrische Bestimmung des Bilirubins mit Hilfe einer Kaliumbichromatlösung als Vergleichsflüssigkeit nach *Meulengracht* (1) hat eine Vervollkommnung erfahren durch Extraktion des Pigmentes zur vergleichenden Messung.

Ernst und *Förster* (1) extrahierten das Bilirubin mit Aceton und verwendeten nach Abfiltration vom ausgefallenen Serumeiweiß auch Kaliumbichromatlösung als Vergleichsflüssigkeit zur kolorimetrischen Messung.

Mann und Mitarbeiter (1) brauchten eine Aether-Alkohol-Mischung zur Extraktion des Bilirubins und bestimmten dessen Wert durch Messung der Lichtabsorption auf spektrophotometrischem Wege.

Ylppö (1) verwendete einen Chloroformextrakt und maß mit Hilfe des Spektrophotometers.

Jherppola und *Leikola* (1) verbesserten insofern die Methode von *Ylppö,* als sie die Anwesenheit von Lipochromen berücksichtigten, die immer im menschlichen Blutserum vorhanden sind und als Farbstoffe die Ergebnisse fälschen können.

Diese Methoden basieren alle auf dem gleichen Prinzip, unterscheiden sich jedoch durch die Verschiedenheit des Extraktionsmittels und die Art der Messung des Bilirubingehaltes: auf der einen Seite verwendet man eine Kaliumbichromatlösung von bekannter Konzentration als Vergleichsflüssigkeit zur kolorimetrischen Bestimmung, auf der andern Seite mißt man spektrophotometrisch. Wenn wir diese Extraktionsmethoden auf ihre Verwertbarkeit hin ansehen, fällt auf, daß sie eine große Fehlerquelle aufweisen, welche auf der Adsorption durch den Eiweißniederschlag beruht. Dieser Niederschlag ist nämlich durch adsorbiertes Bilirubin mehr oder weniger gelb gefärbt, und der gefundene Bilirubinwert ist immer kleiner als der, welcher der tatsächlichen Menge des Blutserums entspricht. Diese Tatsache tritt bei folgendem Vorgehen klar zutage. Fügt man Schweine- oder Kaninchenseren, die natürlicherweise sehr wenig oder überhaupt kein Bilirubin enthalten, eine bestimmte Menge dieses Farbstoffes zu, und bestimmt man nun im Serum den Bilirubinwert nach der Extraktionsmethode, so erreicht der gefundene Wert nie den des

zugesetzten Bilirubins. Es scheint also, als ob diese Extraktionsmethoden überflüssig wären, da sie ja nur einen Teil des vorhandenen Bilirubins erfassen. Um so mehr scheint diese Annahme begründet, als keine Proportionalität in quantitativer Hinsicht zwischen dem mit dem Extraktionsverfahren gefundenen Wert und dem tatsächlichen Bilirubinwert besteht. Die klassische Unterscheidung zwischen dem Bilirubinwert der direkten und der indirekten Diazoreaktion scheint jedoch mit diesem Verhalten des Bilirubins bei der Extraktion in Beziehung zu stehen.

Der Gegenstand dieser Arbeit besteht in der Untersuchung der Zusammenhänge bei der Bilirubinextraktion aus Blutserum. Im weitern soll auf die verschiedenen möglichen Fehlerquellen hingewiesen und mit Hilfe verschiedener aufeinanderfolgender Bestimmungen die Empfindlichkeit des Verfahrens gezeigt werden.

Wir müssen den mit der Extraktionsmethode gefundenen Bilirubinwert dem Gesamtgehalt des Bilirubins im Blutserum gegenüberstellen. Um eben diese Gesamtmenge zu bestimmen, verwenden wir die ausgezeichnete Methode von *Jendrassik* und *Grot* (2). Sie beruht auf dem Diazoverfahren. Coffein-Natriumbenzoat-Lösung dient als Katalysator. Die Messung geschieht spektrophotometrisch. Als Vergleichslösung wird eine nicht diazotierte Lösung von gleicher Zusammensetzung verwendet.

Extraktionsverfahren: Wir benützen zwei Extraktionsmittel, nämlich Aceton und Alkohol. Die Resultate sind etwas verschieden, wobei im allgemeinen die mit Alkoholextraktion gewonnenen Werte größer sind als jene durch Acetonextraktion gefundenen. Die Differenz ist vor allem ausgesprochen in Fällen von schwerem Ikterus. Folgendes Vorgehen hat sich als vorteilhaft erwiesen: In ein *Erlenmeyer*-Kölbchen von 25 ccm Fassungsvermögen gibt man 2 ccm Serum und fügt unter ständigem Schütteln 10—11 ccm Alkohol oder Aceton zu. Nach Filtration in ein graduiertes Zentrifugenglas von 20 ccm Fassungsvermögen wird mit der zur Extraktion verwendeten Flüssigkeit Kölbchen und Eiweißniederschlag ausgewaschen, bis eine Filtramenge von 12 ccm erreicht ist. Zur Trennung der Lipochrome vom Bilirubinextrakt gibt man 2—3 ccm Petroläther zu und schließlich, um die Trennung zu erleichtern, 2 ccm Wasser. Nach Verschließung des Zentrifugenröhrchens mit einem Korkzapfen zentrifugiert man während 10 Minuten und liest das Volumen der untenstehenden gelb gefärbten Flüssigkeitsmenge (= V) ab. Zur spektrophotometrischen Messung verwendet man die 3-ccm-Küvette und das blaue Filter S. 47. Unter diesen Bedingungen errechnet sich der Bilirubinwert nach folgender Gleichung:

$$\text{Bilirubin in mg\%} = \frac{0{,}353 \cdot \text{V. E.}}{2}$$

wobei E = Extinktionswert der Lösung.

Zur korrekten Ausführung dieses Verfahrens ist es von größter Wichtigkeit, in der Dunkelheit zu arbeiten. Es ist deshalb vorteilhaft, die Kölbchen und das Zentrifugenglas durch schwarze Papierhüllen vor Licht zu schützen und so schnell als möglich zu arbeiten. Diese Einwirkung des Lichtes, die von *Gigon* und *Noverraz* (3) beschrieben wurde, ist vor allem integrierend bei Alkohol, Aceton und Chloroformlösungen des Bilirubins. So hat sich beispielsweise der Bilirubinwert einer acetonischen Lösung, während drei Stunden dem Tageslicht ausgesetzt, von 10,85 mg% auf 0,65 mg% verringert. Eine ebensolang in der Dunkelheit gehaltene entsprechende Lösung änderte ihren Gehalt wenig. Die Werte variierten von 10,85 mg% bis 10,84%. In Kaninchenserum gelöstes Bilirubin, auch während drei Stunden im Tageslicht stehen gelassen, sank von 9,43 mg% auf 6,00 mg%. Es zeigte sich also hier ein wesentlich geringerer photochemischer Effekt, der jedoch nicht so unwesentlich ist, als daß er vernachlässigt werden dürfte.

Weiter oben wurde ausgeführt, daß alle quantitativen Bestimmungsmethoden, basierend auf der Extraktion des Farbstoffes, immer zu kleine Werte ergeben, bedingt durch die partielle Retention des Pigmentes durch den Eiweißniederschlag. Beim Arbeiten mit Blutseren von hohem Bilirubingehalt tritt diese Erscheinung klar zutage. Der Niederschlag zeigt dort eine gelbe Färbung von je nach Umständen sehr verschiedener Intensität, die sich beim Auswaschen mit dem Lösungsmittel nicht verringert.

Genauigkeit der Verfahren:

1. Bestimmung des Gesamtbilirubingehaltes nach *Jendrassik* und *Grot*. Verschiedene aufeinanderfolgende Messungen des Bilirubingehaltes zwei verschiedener Blutseren haben folgende Werte ergeben:

Serum R.	Bilirubinwert	0,40	0,38	0,40	0,40 mg%
Serum S.	« «	0,97	0,98	0,97	0,97 mg%

Die maximale Differenz beträgt also für das erste Serum 0,02 mg%, für das zweite 0,01 mg%. Es darf angenommen werden, daß diese Methode sehr genau ist.

2. Bestimmung des Bilirubinwertes mit Hilfe des Extraktionsverfahrens. In drei verschiedenen Versuchsreihen wurden folgende Werte erhalten:

a) Acetonextraktion von Serum R. ergab: 0,15, 0,16, 0,16, 0,13 mg%, maximale Differenz = 0,03.

b) Acetonextraktion von Pferdeserum: 0,83, 0,81, 0,79, 0,80 mg%, maximale Differenz = 0,04.

c) Alkoholextraktion von Pferdeserum mit verschiedenen Alkoholkonzentrationen:

Alkoholkonzentration: absolut, 95%, 90%, 80%.
Bilirubinwert: 0,79, 0,81, 0,84, 0,80 mg%.
Maximale Differenz = 0,05.

Diese Zahlen zeigen, daß auch hier eine gute Uebereinstimmung besteht. Die Differenz bei Verwendung verschiedener Alkoholkonzentrationen im Bereiche von 80—100% ist unbedeutend. Da die Werte ungefähr die gleichen Schwankungen aufweisen wie bei Verwendung konstanter Lösungen, scheint die Konzentration keine Rolle zu spielen.

Retentionsindex: Mit Hilfe des Retentionsindicis bringen wir die durch den Eiweißniederschlag zurückgehaltene Bilirubinmenge mit der des Extraktes in Beziehung. Wenn wir als D den mit der Diazomethode gefundenen Gesamtwert des Bilirubins bezeichnen und mit E jenen durch Aceton- oder Alkoholextraktion erhaltenen Wert, so ergibt sich folgende Beziehung: $\text{Retentionsindex} = \frac{D - E}{E}$

Gigon und *Noverraz* (3) haben mitgeteilt, daß diese Indices sich als unabhängig erweisen vom Gesamtgehalt an Bilirubin, daß sie jedoch von vielen andern Faktoren abhängen, von welchen die Herkunft des Bilirubins als wichtigster und interessantester erscheint.

Da die Retention durch Adsorption des Bilirubins an den Eiweißniederschlag bedingt zu sein scheint, haben wir versucht, deren Abhängigkeit vom Albumingehalt zu bestimmen. Wir beschränken uns auf die Untersuchung der Albumine, weil die Globuline von sehr untergeordneter oder überhaupt keiner Bedeutung sind. Als wir nämlich versuchten, die Beziehung zwischen Albumin-Globulin-Quotient und Retentionsindex festzustellen, waren nach der Extraktion die Globuline im Gegensatz zu den Albuminen nicht gefärbt.

Um diese adsorbierende Eigenschaft der Albumine in quantitativer Hinsicht zu bestimmen, sind wir folgendermaßen vorgegangen:

Wir benützten Schweineserum von 8,1% Gesamteiweißgehalt, wovon 3,6% auf Albumin und 4,5% auf Globulin entfallen. Durch Verdünnung mittels physiologischer Kochsalzlösung schaffen wir

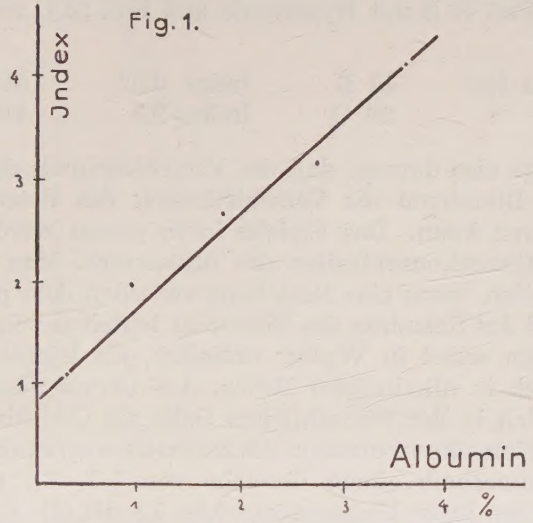
Lösungen von 2,7, 1,8, 0,9 und 0,33% Eiweißgehalt. Diesen Lösungen wird menschliche Galle zugesetzt, und zwar 2 Tropfen Galle auf 10 ccm Serum.

Die Bilirubinbestimmung nach dem Diazo- und Extraktionsverfahren hat folgende Werte ergeben:

Albumin in %	3,6	2,7	1,8	0,9	0,33
Gesamtbilirubin	2,07	2,05	2,11	2,04	2,02
Acetonsextrakt	0,40	0,49	0,57	0,67	0,94
Retention	1,67	1,56	1,54	1,37	1,08
Index	4,2	3,2	2,7	2,0	1,1

Die graphische Darstellung des Indicis als Funktion des Albumingehaltes ergibt folgende Kurve.

Fig. 1.



Der Einfluß des Albumingehaltes zeigt sich auch deutlich bei folgendem Versuch: Ein Kaninchen, dem zweimal im Abstand von einer Woche 5 mg Urannitrat subkutan injiziert worden ist, zeigt ein Ansteigen der Albumine im Blut. Proportional dem Albumingehalt steigt der Retentionsindex des dem Serum zugefügten Bilirubins an.

Wir erhielten folgende Werte bei einem Kaninchen von 2,87 Kilogramm Gewicht:

	Rest N	Albumin	Bilir. (Diaz.)	Acetonextr.	Index
vor der Injekt.	27,8 mg%	4,3 mg%	1,70 mg%	0,94 mg%	0,81
nach 2 Inj. von je 5 mg Urannitrat	109 mg%	6%	1,40 mg%	0,72 mg%	0,94

Zu bemerken ist noch, daß das dem Serum zugefügte Bilirubin aus Gallensteinen von Ochsen gewonnen worden war. Wir haben uns mit amorphem Bilirubin begnügt. Durch folgendes Verfahren wurde es isoliert. Nach Entfernung des Cholesterines aus den Gallensteinen durch Aetherextraktion und nach Ersetzung des Bilirubinat-Ions im Ca-Bilirubinat durch Cl, indem HCl zugesetzt wurde, erhält man nach Auswaschen des $CaCl_2$ durch Wasser unlösliches, amorphes Bilirubinpulver.

Im Gegensatz zu diesem unter experimentellen Bedingungen dem Albumingehalt proportionalen Ansteigen des Indicis war es nicht möglich, diese Beziehung bei zwei beliebigen Seren nachzuweisen. In 51 untersuchten Fällen mit Schwankungen des Indicis von 0,28—9,1 fanden wir oft eine Umkehrung dieser Beziehung, so z. B. in Fall 43 B mit Hypertonie und Fall 26 O mit Myokardschaden:

Wir fanden für	43 B	Index 0,62	Albumin 4,6%
» » »	26 O	Index 2,5	Albumin 3,5%

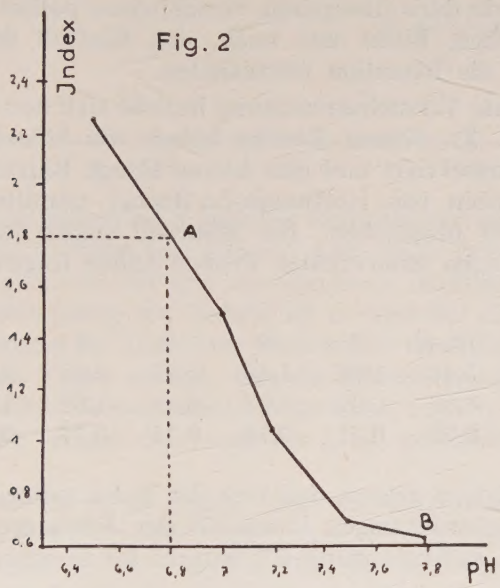
Es folgt also daraus, daß die Verschiedenheit der Albuminmenge im Blutserum die Verschiedenheit des Retentionsindicis nicht erklären kann. Das Gleiche kann gesagt werden von der Wasserstoffionenkonzentration des Blutserums. Man würde sehr wohl begreifen, wenn eine Beziehung zwischen dem pH des Blutserums und der Retention des Bilirubins bestehen würde. Ist doch das Bilirubin selbst in Wasser unlöslich, als leichte Säure hingegen löslich in alkalischem Milieu. Auf Grund dieser Tatsache findet es sich in der menschlichen Galle als Ca-Bilirubinat. Die Wasserstoffionenkonzentration des normalen menschlichen Serums schwankt innerhalb einem Bereiche von 7,3—7,5 pH, die der pathologischen Seren hingegen von 6,8—7,8 pH (4). Es ist deshalb interessant, festzustellen, in welchem Ausmaß der Index variiert bei Aenderung des pH von 6,8—7,8. Zu diesem Zwecke haben wir Schweineserum Bilirubin zugesetzt, bis der Wert von 4 mg% erreicht war. Das Bilirubin wurde in einer n/10-NaOH-Lösung zugesetzt, wodurch das pH auf 9 anstieg.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde allmählich verringert auf 7,8, 7,5, 7,2, 7 und 6,5 durch Zusatz von 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Tropfen einer n-HCl-Lösung zu 4,3 ccm Serum.

Bei Bestimmung des Bilirubingehaltes dieser Lösung haben wir folgende Werte erhalten:

Serum in ccm und Bilirubin	n HCl	H_2O	pH	Gesamt-Bilirubin	Acetonex.	Index
4,3	1 Tr.	5 Tr.	7,8	4 mg%	2,47 mg%	0,62
4,3	2 Tr.	4 Tr.	7,5	4 mg%	2,35 mg%	0,70
4,3	3 Tr.	3 Tr.	7,2	4 mg%	1,96 mg%	1,06
4,3	4 Tr.	2 Tr.	7	4 mg%	1,60 mg%	1,50
4,3	6 Tr.	0 Tr.	6,5	4 mg%	1,28 mg%	2,26

Graphisch dargestellt, erhalten wir Abb. 2.



Zwischen den Punkten A und B finden sich die Werte, die dem pathologischen Bereich des pH entsprechen (pH 6,8—7,8). Die Indices variieren von 1,8—0,6, zeigen also eine maximale Differenz von 1,2, die keineswegs dem entspricht, was wir bei der Untersuchung verschiedener beliebiger Blutseren gefunden haben. In den 51 untersuchten Fällen fanden sich Indices von 0,28—9,1, folglich kann ebensowenig wie der Albumingehalt die Wasserstoffionenkonzentration die Schwankung des Retentionsindicis erklären.

Bei Fällen von schwerem Ikterus hat man geglaubt, die Ursache der direkten Diazoreaktion in Beziehung setzen zu können mit dem hohen Gallensäuregehalt des Blutserums (5) und hat damit auch das große Adsorptionsvermögen des Serums erklären wollen. Das hat jedoch nichts auf sich, denn die Gegenwart der Gallen-

säure beeinflußt die Diazoreaktion in keiner Weise, und der Index ändert sich nur unwesentlich beim Zufügen von Gallensäure.

Die folgenden Werte mögen als Illustration dienen:
In Schweineserum, dem Bilirubin zugesetzt worden war, fand sich:

Gesamtbil. = 1,88 Acetonextr. = 1,14 *Index = 0,65*

Gleiche Lösung und Na-Glykocholat (10 mg%)

Gesamtbil. = 1,85 Acetonextr. = 1,12 *Index = 0,65*

Bevor wir dazu übergehen, verschiedene pathologische Seren zu untersuchen, bleibt uns noch, den Einfluß des Alters des Serums auf die Retention festzustellen.

Eine erste Versuchsanordnung bezieht sich nur auf das Alter des Serums. Zu diesem Zwecke haben wir Schweineserum im Eiskasten konserviert und eine kleine Menge Bilirubin (kristallisiertes Bilirubin von Hoffmann-La Roche) unmittelbar vor der Untersuchung beigegeben. Die während sieben hintereinanderfolgenden Tagen untersuchten Proben haben folgende Werte ergeben:

Serum	frisch	1	2	3	4	5	6 Tage
Gesamtbil.	5,48	1,06	1,80	1,47	2,85	2,09	1,14
Aceton	3,07	0,62	1,03	0,85	1,62	1,24	0,68
Index	0,78	0,71	0,74	0,71	0,75	0,68	0,67

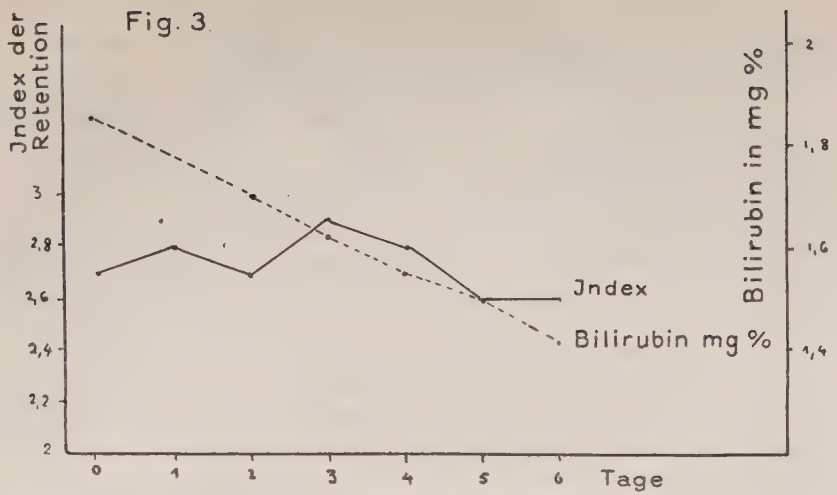
Diese Zahlen zeigen, daß sich der Index unter Berücksichtigung von Schwankungen innerhalb der Fehlergrenze während 6 Tagen bei Aufbewahrung des Serums im Eisschrank nicht geändert hat.

Wir bestätigen mit dieser Versuchsreihe auch jene zu Beginn dieser Arbeit aufgestellte Behauptung, daß der Retentionsindex von der Größe der Bilirubinmenge unabhängig sei.

Eine zweite Versuchsreihe befaßt sich mit dem Alter des im Serum gelösten Bilirubins. Dem Serum wird zu Beginn des Versuches alles Bilirubin auf einmal zugegeben (auf 30 ccm Serum 5 Tropfen Galle). Die folgenden Zahlen beziehen sich auf diesen Versuch:

Serum	frisch	1	2	3	4	5	6 Tage
Gesamtbil.	1,85	1,86	1,70	1,62	1,55	1,50	1,42
Acetonex.	0,49	0,48	0,45	0,41	0,41	0,68	0,39
Index	2,7	2,8	2,7	2,9	2,8	2,6	2,6

Graphisch dargestellt, erhalten wir Abb. 3.



Diese Darstellung zeigt, daß der Bilirubinwert sich allmählich innerhalb von 6 Tagen von 1,85 auf 1,42 senkt. Der Index ändert sich in der gleichen Zeit nur unwesentlich, nämlich von 2,7 auf 2,6. Zur Bestimmung des Indicis ist es deshalb gleichgültig, ob die Untersuchung der Blutprobe unmittelbar nach Entnahme oder erst in einigen Tagen erfolgt. Um die Bilirubinmenge zu bestimmen, ist es jedoch besser, noch am gleichen Tage zu untersuchen. Auf alle Fälle müssen die Seren vor Licht geschützt aufbewahrt werden.

Folgende Versuche zeigen, daß der Retentionsindex höher ist bei Seren, denen an Stelle von reinem Bilirubin Galle zugeführt worden ist. Dazu ist zu bemerken, daß die Galle viele Substanzen enthält, die die Größe der Adsorption beeinflussen können (Fettsäuren, Cholesterin, Lecithine und Mucin).

Die Herkunft der Galle scheint auch die Größe der Indices zu beeinflussen. So hat Schweineserum, dem einerseits Schweinegalle, anderseits menschliche Galle zugesetzt worden war, verschiedene Werte ergeben:

	Gesamtbild.	Acetonex.	Alkoholex.	Index Ac.	Ind. Al.
Schweinegalle	4,90 mg%	1,92 mg%	2,76 mg%	1,56	0,75
Menschengalle	4,80 mg%	1,23 mg%	1,99 mg%	2,90	1,41

Die menschliche Galle zeigt eine viel ausgesprochenere Retention. Das Bilirubin gibt auch entsprechend seinem Reinheitsgrad verschiedene Retentionswerte. Wir zeigen hier zwei verschiedene in Schweineserum gelöste Bilirubinarten:

1. amorphes, aus Gallensteinen von Ochsen gewonnenes Bilirubin,
2. reines, kristallisiertes Bilirubin von Hoffmann-La Roche.

Bei der Bestimmung des Indexes fanden wir:

	Index der Acetonextr.	Index der Alkoholextr.
amorphes Bilirubin	0,89	0,85
reines krist. Bilirubin	0,47	0,43

Die Differenz variiert also beinahe um das Doppelte.

Wir haben 51 Blutseren auf ihren Gehalt an Gesamtbilirubin und auf durch Aceton und Alkohol extrahierbares Bilirubin untersucht. Bei jedem haben wir den Retentionsindex für Aceton und Alkohol berechnet. Im weiteren bestimmten wir den Albumingehalt und haben schließlich die Qualität der Diazoreaktion vermerkt. Wir bezeichnen sie als +, wenn sich innerhalb von 30 Sekunden die Rotfärbung einstellt, und als —, wenn sie erst später oder gar nicht auftritt (6 u. 7).

Die untenstehende Tabelle gibt die gefundenen Werte. Die Seren sind nach der Größe ihres Bilirubingehaltes geordnet.

Diagnose	Bilirubin mg %	Aceton-extrakt. mg %	Alkohol-extrakt. mg %	Index Aceton	Index Alkohol	Albumin %	Diaz. R
1. K. Ikt. catarrh.	31,2	5,4	8,5	4,7	2,6	5,6	+
2. G. Ikt. catarrh.	17,8	2,5	4,7	6,1	2,8	5,1	+
3. H. Leberca.	12,8	1,26	1,66	9,1	6,9	5,3	+
4. H. Ikt. catarrh.	10,2	1,09	1,40	8,3	6,3		+
5. G. Ikt. hämolyt.	5,64	3,42	3,80	0,65	0,48	7	—
6. S. Leberschaden	3,32	0,89	0,86	2,7	2,8	2,4	+
7. P. Ikt. hämolyt.	2,91	1,92	2,09	0,51	0,39		—
8. V. Lebercirrhose	2,5	1,25	1,4	1	0,79	3,9	
9. F. Retentionsikterus	2,47	0,87	0,99	1,8	1,49	9,8	+
10. M. funct. Herzbeschw.	2,34	1,2	1,5	0,9	0,55	6,5	—
11. M. Ikterus hämolyt.	2,12	1,59	1,70	0,33	0,25		—
12. Stauungsleber	2,05	1,05	1,5	0,95	0,37	4,3	

Diagnose	Bilirubin mg %	Aceton-extrakt. mg %	Alkohol-extrakt. mg %	Index Aceton	Index Alkohol	Albumin %	Diaz. R
13. K. Mitral-insuff.	1,9	0,83	1	1,28	0,9	7,1	—
14. W. gr. Leber b. Abd.-Tum.	1,74	1,17	1,27	0,48	0,37	6,2	
15. T. Leberscha-den b. Gravid.	1,39	0,39	0,51	2,5	1,7		?
16. G. Hyperton.	1,32	1,04	1,13	0,28	0,17	6,2	
17. M. Vit. cordis	1,3	0,64	0,76	1	0,71	5,9	
18. B. Stenokard.	1,28	0,67	0,9	0,91	0,42	5,5	—
19. W. Bronch.	1,2	0,6	0,7	1	0,71	6	—
20. M. Vit. cord.	1,2	0,58	0,8	1,1	0,5	6,3	—
21. G. Asthma bronch.	1,16	0,88	0,74	0,32	0,57	4,3	
22. B. Myocard-schaden	1,14	0,6	0,71	0,90	0,61	5,9	—
23. R. Hypertonie	1,1	0,46	0,58	1,4	0,9	5,9	—
24. B. Hypertonie	1,09	0,80	0,73	0,35	0,49	4,4	
25. F. Bronchitis	1,08	0,52	0,72	1,1	0,5	7,2	
26. O. Myocard-schaden	1,06	0,3	0,35	2,5	2	3,5	?
27. S. Bronchitis	1,05	0,47	0,64	1,2	0,64	5,8	—
28. H. Psycho-pathie	0,9	0,42	0,6	1,1	0,5	5,5	—
29. M. Hyperton.	0,89	0,43	0,67	1,1	0,3	6,2	—
30. L. chronische Gastritis	0,94	0,39	0,58	1,4	0,6	6,3	—
31. F. pleuritische Schwarten	0,86	0,51	0,68	0,7	0,26	7,4	—
32. H. Myocard-schaden	0,84	0,36	0,57	1,3	0,47	6,8	—
33. S. Hyperton.	0,82	0,39	0,65	1,1	0,26	6,3	—
34. B. leicht. Myo-cardschad.	0,8	0,42	0,65	0,9	0,23	5,6	—
35. H. Hyperton.	0,79	0,38	0,58	1,1	0,36	5,5	—
36. M. Bronchit.	0,77	0,41	0,51	0,88	0,51	5,1	—
37. H. Hyperton.	0,77	0,45	0,53	0,71	0,45	5,3	—
38. F. function. Herzbeschw.	0,76	0,38	0,61	1	0,25	5,7	—
39. H. Lumbago	0,74	0,35	0,56	1,1	0,32	5	—
40. B. Herzinsuf-fizienz	0,71	0,37	0,52	0,92	0,37	7,5	—

Diagnose	Bilirubin mg %	Aceton-extrakt. mg %	Alkohol-extrakt. mg %	Index Aceton	Index Alkohol	Albumin %	Diaz. R
41. S. Magen-neurose	0,68	0,32	0,37	1,1	0,86	5,4	—
42. M. Malignes Gliom	0,64	0,27	0,38	1,4	0,68	5,3	—
43. B. Hyperton.	0,63	0,39	0,5	0,62	0,26	4,6	—
44. Ba. Hypert.	0,63	0,23	0,47	1,7	0,34	5,4	—
45. S. normal	0,6	0,3	0,46	1	0,3	6,6	—
46. K. Hyperton.	0,49	0,31	0,39	0,58	0,26	5,9	—
47. S. Gastritis	0,48	0,24	0,27	1	0,78	5,9	—
48. S. Miculiez-Erkrank.	0,47	0,18	0,3	1,6	0,57	8,6	
49. Z. chronische Gastritis	0,47	0,20	0,46	0,75	0,02	4,9	
50. S. Hysterie	0,46	0,36	0,36	0,27	0,27	5,1	
51. G. Lympho-granulomat., Herzschaden	0,4	0,14	0,32	1,85	0,25	4,4	—

Diese Tabelle bestätigt, was wir schon früher angeführt haben: Es besteht keine Parallele der Größe des Retentionsindicis weder zum Albumingehalt noch zum Bilirubinwert.

Grosso modo können wir entsprechend dem durch Acetonextraktion erhaltenen Retentionsindex zwei Gruppen unterscheiden.

1. Seren mit Index kleiner als I,
2. Seren mit Index größer als I.

In der Gegend von I, d. h. zwischen Werten von 0,9—1,1, finden sich die Indexwerte innerhalb der Fehlergrenzen. Sehr hohe Indices von 2 an aufwärts zusammen mit einem erhöhten Gesamtbilirubinwert (über 1,2) haben wir nur in Fällen von Ikterus hepatischen Ursprungs (Ikterus catarrh. Steinikterus) gefunden. In diesen Fällen ergibt die Alkoholextraktion auch Werte über 1.

Es finden sich in unserer Tabelle Indices, die den normalen Wert beträchtlich übersteigen, jedoch nicht von Ikterus begleitet sind. Hier bleibt der Gesamtbilirubinwert normal, und der durch Alkoholextraktion erhaltene Index ist kleiner als I. Ein einziger jedoch (26 O.) mit Myokardschaden hat bei der Alkoholextraktion einen Wert von mehr als 1 ergeben, und der Gesamtwert des Bilirubins bleibt in normalen Grenzen. Leicht erhöhte Indices bei

Acetonextraktion bei sonst normalen Werten ergaben sich in 4 Fällen von Hypertonie (1,1, 1,4, 1,7, 1,7).

Seren mit erhöhten Gesamtbilirubinwerten und relativ kleinen Indices sind nur bei hämolytischem Ikterus vorhanden.

Zusammenfassung.

Wir untersuchen das Verhalten des Bilirubins bei Enteiweißung des Blutserums mittels Aceton und Alkohol. Zahlreiche Faktoren beeinflussen wesentlich die Retention des Bilirubins. Der Albumingehalt und die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung sind vermutlich von untergeordneter Bedeutung. Möglicherweise handelt es sich um zwei verschieden aufgebaute Stoffe, und eventuell wird die Retention durch diese Tatsache entscheidend beeinflußt. — In Fällen von hepathischem Ikterus ist der Retentionsindex, d. h. der Quotient aus adsorbiertem und extrahiertem Bilirubin, beträchtlich größer als I, und zwar sowohl bei Aceton als bei Alkoholextraktion. Bei hämolytischem Ikterus hingegen findet sich trotz des erhöhten Gesamtbilirubingehaltes ein Index, der kleiner ist als I. Schließlich hat es noch einige Seren mit normalem Gesamtbilirubingehalt, die bei Acetonextraktion einen deutlich größern Index als I aufweisen, während der durch Alkohol gewonnene Index unterhalb I bleibt. In allen diesen Fällen lag ein Herzschaden vor.

Literatur.

1. Acta Soc. Med. Fenn. «Duodecim» Ser. B., T. XX, I, 1936. — 2. *L. Jendrassik* und *P. Grot,* Biochemische Zeitschrift, Band 297 (1938), S. 81. — 3. *Gigon* und *Noverraz,* Schweizerische Medizinische Wochenschrift 1942, Nr. 44. — 4. *P. Thomas,* Manuel de Biochimie, p. 141. Masson & Cie, Paris, 1936. — 5. *Noël* et *Fiessinger,* Les explorations fonctionnelles, p. 103. Masson & Cie, Paris, 1937. — 6. *Peter Rona,* Praktikum der physiologischen Chemie, S. 233. Julius Springer, Berlin, 1929. — 7. Dr. *Kurt Holm,* Laboratoriumstechnik in der Medizin, S. 191. Paul Hartung, Hamburg, 1931.